



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 102488929 A

(43) 申请公布日 2012.06.13

(21) 申请号 201110424912.8

*D01F 1/10*(2006.01)

(22) 申请日 2011.12.16

(71) 申请人 东华大学

地址 201620 上海市松江区新城区人民北路  
2999 号

(72) 发明人 张耀鹏 范苏娜 邵惠丽 潘辉  
杭怡春

(74) 专利代理机构 上海天翔知识产权代理有限  
公司 31224

代理人 吕伴

(51) Int. Cl.

*A61L 27/54*(2006.01)

*A61L 27/22*(2006.01)

*D01F 4/02*(2006.01)

权利要求书 2 页 说明书 6 页

(54) 发明名称

一种含血管内皮生长因子的再生丝素蛋白组  
织工程支架及其制备方法

(57) 摘要

本发明涉及一种含血管内皮生长因子的再生  
丝素蛋白组织工程支架及其制备方法,包括:(1)  
以蚕茧为原料,制备再生丝素蛋白水溶液;(2) 配  
制血管内皮生长因子和牛血清蛋白水溶液;(3)  
将(1)和(2)所制溶液混合,制备含血管内皮生  
长因子的再生丝素蛋白溶液;(4)将(3)制备的溶液  
作为纺丝液,采用静电纺丝技术制备组织工程支  
架,所述的工程支架为混合有血管内皮生长因子  
和牛血清蛋白的再生丝素蛋白纤维构成的具有三  
维交错网络结构特征的纤维毡;(5)对支架进行  
后处理,以提高其力学性能。该方法制备的组织  
工程支架,可缓释血管内皮生长因子,促进血管生  
成,其用于生物医用领域,包括用于长段尿道狭窄  
或皮肤损伤的修复。

1. 一种含血管内皮生长因子的再生丝素蛋白组织工程支架,其特征是:所述的再生丝素蛋白组织工程支架为混合有血管内皮生长因子和牛血清蛋白的再生丝素蛋白纤维构成的具有三维交错网络结构特征的纤维毡,其中血管内皮生长因子和牛血清蛋白在所述再生丝素蛋白纤维中均匀分散;所述的血管内皮生长因子的质量占所述再生丝素蛋白纤维总质量的  $3.5 \times 10^{-5} \sim 9.5 \times 10^{-5} \%$ ,所述的牛血清蛋白的质量占所述再生丝素蛋白纤维总质量的  $1.5 \times 10^{-3} \sim 4 \times 10^{-3} \%$ 。

2. 根据权利要求1所述的一种含血管内皮生长因子的再生丝素蛋白组织工程支架,其特征在于,所述的再生丝素蛋白纤维的直径范围为  $200\text{nm} \sim 5 \mu\text{m}$ ;所述的组织工程支架的断裂伸长率为  $5\% \sim 12\%$ 。

3. 根据权利要求1所述的一种含血管内皮生长因子的再生丝素蛋白组织工程支架,其特征在于,所述的纤维毡的孔隙率为  $50 \sim 90\%$ 。

4. 根据权利要求1所述的一种含血管内皮生长因子的再生丝素蛋白组织工程支架,其特征在于,所述的含血管内皮生长因子的再生丝素蛋白组织工程支架用于生物医用领域,包括用于长段尿道狭窄或皮肤损伤的修复。

5. 根据权利要求1所述的一种含血管内皮生长因子的再生丝素蛋白组织工程支架的制备方法,其特征是包括以下步骤:

(1) 以蚕茧为原料,经脱胶、溶解、透析、浓缩后,制备质量百分比为  $30 \sim 40\%$  的再生丝素蛋白水溶液;

所述再生丝素蛋白水溶液的制备步骤如下:将蚕茧用质量百分比为  $0.3 \sim 0.7\%$  的碳酸钠水溶液脱胶后,溶解于摩尔浓度为  $9.0 \sim 9.5\text{mol/L}$  的溴化锂水溶液中,得到再生丝素蛋白-溴化锂水溶液;将此溶液离心、过滤、透析和浓缩,得到质量百分比为  $30 \sim 40\%$  的再生丝素蛋白水溶液;

(2) 以水为溶剂,配制血管内皮生长因子和牛血清蛋白水溶液,所述水溶液中血管内皮生长因子的质量浓度为  $15 \sim 25 \mu\text{g/ml}$ ,牛血清蛋白的质量浓度为  $0.6 \sim 1\text{mg/ml}$ ;

(3) 将所述再生丝素蛋白水溶液与所述血管内皮生长因子和牛血清蛋白水溶液以  $60 : 1 \sim 130 : 1$  的体积比混合,制备含血管内皮生长因子的再生丝素蛋白溶液;

(4) 以步骤(3)制备的含血管内皮生长因子的再生丝素蛋白溶液为纺丝液,采用静电纺丝技术制备含血管内皮生长因子的再生丝素蛋白纤维毡;

(5) 以乙醇-水混合溶液作为后处理剂,对步骤(4)制备的再生丝素蛋白纤维毡进行后处理,取出晾干,即得到最终含血管内皮生长因子的再生丝素蛋白组织工程支架;所述的组织工程支架的断裂伸长率为  $5\% \sim 12\%$ ;

所述的后处理是指:将静电纺制得的纤维毡浸入所述后处理剂中拉伸  $1.125 \sim 1.5$  倍后,在所述后处理剂中定长浸泡  $30 \sim 120\text{min}$ 。

6. 根据权利要求5所述的一种含血管内皮生长因子的再生丝素蛋白组织工程支架的制备方法,其特征在于,所述的蚕茧为桑蚕茧、柞蚕茧或蓖麻蚕茧中的一种。

7. 根据权利要求5所述的一种含血管内皮生长因子的再生丝素蛋白组织工程支架的制备方法,其特征在于,所述的静电纺丝技术制备含血管内皮生长因子的再生丝素蛋白纤维毡时的纺丝环境温度为  $2 \sim 6^\circ\text{C}$ 。

8. 根据权利要求5所述的一种含血管内皮生长因子的再生丝素蛋白组织工程支架

的制备方法,其特征在于,所述的乙醇-水混合溶液中乙醇占乙醇-水混合溶液总体积的75~95%。

## 一种含血管内皮生长因子的再生丝素蛋白组织工程支架及其制备方法

### 技术领域

[0001] 本发明属于纺织工业、材料科学的技术领域,特别涉及一种含血管内皮生长因子的再生丝素蛋白组织工程支架及其制备方法,以含血管内皮生长因子的再生丝素蛋白溶液为纺丝液,通过静电纺丝工艺制备了孔隙率为 50 ~ 90% 的纤维毡,以醇-水混合溶液为后处理剂,获得力学性能优异的含血管内皮生长因子的再生丝素蛋白纤维毡,制备的纤维毡可作为生物支架用于生物医用领域,包括用于长段尿道狭窄或皮肤损伤的修复。

### 背景技术

[0002] 无论是长段尿道狭窄还是皮肤损伤,都不同程度地影响患者的生活质量。其中长段复杂性尿道狭窄不仅会引起尿外渗、尿瘘、假道等局部并发症,严重者甚至波及泌尿系统其它脏器引起全身性病变。既往以多种自体组织为重建材料的替代疗法在复杂性尿道狭窄的治疗中显示了良好的应用前景,但该疗法存在“以牺牲正常组织为代价,以手术创伤修复组织缺损”的缺憾,不可避免的引起取材部位的并发症。组织工程的兴起和迅猛发展为尿道病变的修复开辟了新的治疗途径。临床上曾采用小肠黏膜下脱细胞基质(SIS)、膀胱黏膜下脱细胞基质(BAMG)等重建尿道治疗长段复杂性尿道狭窄,但术后患者易发生尿道再狭窄、尿道憩室和尿瘘等并发症。究其原因,是因为上述组织工程支架材料无法在体内快速血管化。因此开发合适的组织工程支架,并促其在体内早期快速血管化是长段组织工程尿道构建的关键要素。

[0003] 血管内皮生长因子(VEGF)是一种有效的促血管生长因子,能直接作用于血管内皮细胞促进血管内皮细胞增殖,抑制内皮细胞凋亡,增加血管通透性,诱导新生血管形成,但其半衰期短,仅将外源性 VEGF 加入移植材料中并不能有效而持久地促其血管化。

[0004] 解决上述问题的方法:一是采用基因工程技术,使种子细胞携带 VEGF 基因,但该方法可控性差;二是采用支架材料将 VEGF 包裹,使其缓释 VEGF。第二种方法的关键是选择合适的支架材料。目前文献报道的可降解生物膜主要有两种:一是由动物胶原蛋白或胶原纤维制成的胶原膜,另一种是由聚乳酸和医用增塑剂或胶原纤维制成。但这些可降解生物膜植入体内后,在降解过程中易产生酸从而可导致植入区发生炎症反应,同时存在着体内排斥反应的风险。

[0005] 而本发明的目的在于克服上述缺点,选择丝素蛋白作为主体高分子材料。其不仅具有优异的力学性能,而且具有良好的生物相容性、可降解性、良好的透气透湿性、良好的促血管化能力等。公开号为 CN 13720203A 的中国发明专利“一种组织工程支架用纤维及其制备方法”公开了一种以天然蚕丝为原料,经脱胶、溶解等工序后,采用湿法纺丝工艺制备组织工程支架材料的方法。公开号为 CN 101603007A 的中国发明专利“一种细胞培养载体制备方法”公开了一种以丝素蛋白为主要原料,采用溶液成型制备纤维或膜片的方法。以上技术所提供的丝素蛋白纤维直径均为十几微米到几十微米。

[0006] 但支架材料的设计应最大限度仿生人体细胞外基质(ECM)的结构与功能特点,才

能有效解决材料的生物相容性问题,调控生物信号的传导,诱导细胞和组织生长,促进机体再生与修复。细胞外基质的纤维直径一般介于 50 ~ 500nm 之间,而采用静电纺技术制备的纤维直径范围一般在 3nm ~ 5 μ m,并且由其制备的纤维毡孔隙率高、比表面积大、纤维精细程度和均一性高、长径比大,这些特点使电纺纤维可在一定程度上仿生 ECM 的结构和功能,为细胞提供理想的生长、增殖和分化的微环境。公开号 CN 1887362A 的中国发明专利“一种细胞培养支架材料及其制备方法”公布了一种以蚕丝和胶原蛋白为原料,采用静电纺技术制备三维网状再生丝素蛋白复合纳米纤维无纺毡的方法。但该技术制备的无纺毡未与生物活性生长因子,如:血小板衍生生长因子、胰岛素样生长因子、骨形成蛋白、成纤维细胞生长因子等复合,因此所制备的三维网状再生丝素蛋白复合纳米纤维无纺毡不具有功能性。因此本发明采用静电纺技术制备含血管内皮生长因子的再生丝素蛋白组织工程支架,至目前为止,国内外还未见有关该种组织工程支架研究和生产的文献报道或专利。

### 发明内容

[0007] 本发明所要解决的技术问题是提供一种含血管内皮生长因子的再生丝素蛋白组织工程支架的制备方法,是将含血管内皮生长因子的再生丝素蛋白溶液进行静电纺丝,采用乙醇-水混合溶液为后处理剂,然后经后拉伸处理的方法。通过该方法制得的再生丝素蛋白组织工程支架为由混合有血管内皮生长因子和牛血清蛋白的再生丝素蛋白纤维构成的具有三维交错网络结构特征的纤维毡,其中血管内皮生长因子在再生丝素蛋白纤维中分散均匀,保证了其可以逐渐释放并促进血管生成,同时,该制备过程简单,易于操作,对环境无污染。

[0008] 本发明的目的在于提供一种生物相容性好、生物降解性优异,同时能在体内快速血管化的组织工程支架及其制备方法。

[0009] 本发明的一种含血管内皮生长因子的再生丝素蛋白组织工程支架为具有三维交错网络结构特征的纤维毡;其中所述的血管内皮生长因子的质量占所述再生丝素蛋白纤维总质量的  $3.5 \times 10^{-5} \sim 9.5 \times 10^{-5}\%$ ,所述的牛血清蛋白的质量占所述再生丝素蛋白纤维总质量的  $1.5 \times 10^{-3} \sim 4 \times 10^{-3}\%$ 。

[0010] 作为优选的技术方案:

[0011] 如上所述的一种含血管内皮生长因子的再生丝素蛋白组织工程支架,所述的再生丝素蛋白纤维直径范围为 200nm ~ 5 μ m;所述的含血管内皮生长因子的再生丝素蛋白组织工程支架的断裂伸长率为 5% ~ 12%。

[0012] 如上所述的一种含血管内皮生长因子的再生丝素蛋白组织工程支架,所述的纤维毡的孔隙率为 50 ~ 90%。

[0013] 如上所述的一种含血管内皮生长因子的再生丝素蛋白组织工程支架,所述的含血管内皮生长因子的再生丝素蛋白组织工程支架用于生物医用领域,包括用于长段尿道狭窄或皮肤损伤的修复。

[0014] 本发明还提供了一种含血管内皮生长因子的再生丝素蛋白组织工程支架的制备方法,其步骤为:

[0015] (1) 以蚕茧为原料,经脱胶、溶解、透析、浓缩后,制备质量百分比为 30 ~ 40% 的再生丝素蛋白水溶液;

[0016] 所述再生丝素蛋白水溶液的制备步骤如下：将蚕茧用质量百分比为 0.3 ~ 0.7% 的碳酸钠水溶液脱胶后，溶解于摩尔浓度为 9.0 ~ 9.5mol/L 的溴化锂水溶液中，得到再生丝素蛋白 - 溴化锂水溶液；将此溶液离心、过滤、透析和浓缩，得到质量百分比为 30 ~ 40% 的再生丝素蛋白水溶液；

[0017] (2) 以水为溶剂，配制血管内皮生长因子和牛血清蛋白水溶液，其中血管内皮生长因子的质量浓度为 15 ~ 25  $\mu$ g/ml，牛血清蛋白的质量浓度为 0.6 ~ 1mg/ml；

[0018] (3) 将所述再生丝素蛋白水溶液与所述血管内皮生长因子和牛血清蛋白水溶液以 60 : 1 ~ 130 : 1 的体积比混合，制备含血管内皮生长因子的再生丝素蛋白溶液；

[0019] (4) 以步骤 (3) 制备的含血管内皮生长因子的再生丝素蛋白溶液为纺丝液，采用静电纺丝技术制备含血管内皮生长因子的再生丝素蛋白纤维毡；

[0020] (5) 以乙醇 - 水混合溶液作为后处理剂，对步骤 (4) 制备的纤维毡进行后处理，取出晾干，即得到最终含血管内皮生长因子的再生丝素蛋白组织工程支架；所述的含血管内皮生长因子的再生丝素蛋白组织工程支架的断裂伸长率为 5% ~ 12%；

[0021] 所述的后处理是指：将静电纺制得的纤维毡浸入所述后处理剂中拉伸 1.125 ~ 1.5 倍后，在所述后处理剂中定长浸泡 30 ~ 120min。

[0022] 如上所述的一种含血管内皮生长因子的再生丝素蛋白组织工程支架的制备方法，所述的蚕茧为桑蚕茧、柞蚕茧或蓖麻蚕茧中的一种。

[0023] 如上所述的一种含血管内皮生长因子的再生丝素蛋白组织工程支架的制备方法，所述的静电纺丝技术制备含血管内皮生长因子的再生丝素蛋白纤维毡时的纺丝环境温度为 2 ~ 6 $^{\circ}$ C。

[0024] 如上所述的一种含血管内皮生长因子的再生丝素蛋白组织工程支架的制备方法，所述的醇 - 水混合溶液中乙醇占乙醇 - 水混合溶液总体积的 75 ~ 95%。

[0025] 有益效果：

[0026] 本发明创造性地提出了含血管内皮生长因子的再生丝素蛋白组织工程支架的制备方法。在保证再生丝素蛋白较高浓度的前提下，避免了有机溶剂（如甲酸、六氟异丙醇等）的使用，不仅降低了生产成本，而且避免了对人体的伤害。按照本发明的方法制得的含血管内皮生长因子的再生丝素蛋白组织工程支架能在体内快速血管化，满足生物医用领域的使用要求。

## 具体实施方式

[0027] 下面结合具体实施方式，进一步阐述本发明。应理解，这些实施例仅用于说明本发明而不适用于限制本发明的范围。此外应理解，在阅读了本发明讲授的内容之后，本领域技术人员可以对本发明作各种改动或修改，这些等价形式同样落于本申请所附权利要求书所限定的范围。

[0028] 本发明的一种含血管内皮生长因子的再生丝素蛋白组织工程支架，为混合有血管内皮生长因子和牛血清蛋白的再生丝素蛋白纤维构成的具有三维交错网络结构特征的纤维毡，其中血管内皮生长因子和牛血清蛋白在再生丝素蛋白纤维中均匀分散；所述的血管内皮生长因子的质量占所述再生丝素蛋白纤维总质量的  $3.5 \times 10^{-5} \sim 9.5 \times 10^{-5}\%$ ，所述的牛血清蛋白的质量占所述再生丝素蛋白纤维总质量的  $1.5 \times 10^{-3} \sim 4 \times 10^{-3}\%$ 。

[0029] 所述的再生丝素蛋白纤维的直径范围为 200nm ~ 5  $\mu$ m ;所述的含血管内皮生长因子的再生丝素蛋白组织工程支架的断裂伸长率为 5% ~ 12%。

[0030] 所述的纤维毡的孔隙率为 50 ~ 90%。

[0031] 本发明的一种含血管内皮生长因子的再生丝素蛋白组织工程支架,用于生物医用领域,包括用于长段尿道狭窄或皮肤损伤的修复。

[0032] 实施例 1

[0033] 一种含血管内皮生长因子的再生丝素蛋白组织工程支架的制备方法,其步骤为:

[0034] (1) 以桑蚕茧为原料,经脱胶、溶解、透析、浓缩后,制备质量百分比为 30% 的再生丝素蛋白水溶液;

[0035] 所述再生丝素蛋白水溶液的制备步骤如下:将桑蚕茧用质量百分比为 0.3% 的碳酸钠水溶液脱胶后,溶解于摩尔浓度为 9.0mol/L 的溴化锂水溶液中,得到再生丝素蛋白-溴化锂水溶液;将此溶液离心、过滤、透析和浓缩,得到质量百分比为 30% 的再生丝素蛋白水溶液;

[0036] (2) 以水为溶剂,配制血管内皮生长因子和牛血清蛋白水溶液,其中血管内皮生长因子的质量浓度为 15  $\mu$ g/ml,牛血清蛋白的质量浓度为 0.6mg/ml;

[0037] (3) 将所述再生丝素蛋白水溶液与所述血管内皮生长因子和牛血清蛋白水溶液以 130 : 1 的体积比混合,制备含血管内皮生长因子的再生丝素蛋白溶液;

[0038] (4) 以步骤 (3) 制备的含血管内皮生长因子的再生丝素蛋白溶液为纺丝液,在 2 $^{\circ}$ C 下采用静电纺丝技术制备含血管内皮生长因子的再生丝素蛋白纤维毡;所述的再生丝素蛋白纤维的直径范围为 200nm ~ 1  $\mu$ m,所述的纤维毡的孔隙率为 90%;

[0039] (5) 以乙醇体积分数为 75% 的乙醇-水混合溶液作为后处理剂,对步骤 (4) 制备的纤维毡浸入该后处理剂中拉伸 1.125 倍后,在所述后处理剂中定长浸泡 30min,取出晾干,即得到最终含血管内皮生长因子的再生丝素蛋白组织工程支架;所述的含血管内皮生长因子的再生丝素蛋白组织工程支架的断裂伸长率为 12%。

[0040] 实施例 2

[0041] 一种含血管内皮生长因子的再生丝素蛋白组织工程支架的制备方法,其步骤为:

[0042] (1) 以柞蚕茧为原料,经脱胶、溶解、透析、浓缩后,制备质量百分比为 33% 的再生丝素蛋白水溶液;

[0043] 所述再生丝素蛋白水溶液的制备步骤如下:将柞蚕茧用质量百分比为 0.4% 的碳酸钠水溶液脱胶后,溶解于摩尔浓度为 9.1mol/L 的溴化锂水溶液中,得到再生丝素蛋白-溴化锂水溶液;将此溶液离心、过滤、透析和浓缩,得到质量百分比为 33% 的再生丝素蛋白水溶液;

[0044] (2) 以水为溶剂,配制血管内皮生长因子和牛血清蛋白水溶液,其中血管内皮生长因子的质量浓度为 17  $\mu$ g/ml,牛血清蛋白的质量浓度为 0.7mg/ml;

[0045] (3) 将所述再生丝素蛋白水溶液与所述血管内皮生长因子和牛血清蛋白水溶液以 70 : 1 的体积比混合,制备含血管内皮生长因子的再生丝素蛋白溶液;

[0046] (4) 以步骤 (3) 制备的含血管内皮生长因子的再生丝素蛋白溶液为纺丝液,在 4 $^{\circ}$ C 下采用静电纺丝技术制备含血管内皮生长因子的再生丝素蛋白纤维毡;所述的再生丝素蛋白纤维的直径范围为 500nm ~ 2  $\mu$ m,所述的纤维毡的孔隙率为 81%;

[0047] (5) 以乙醇体积分数为 80% 的乙醇 - 水混合溶液作为后处理剂, 对步骤 (4) 制备的纤维毡浸入该后处理剂中拉伸 1.25 倍后, 在所述后处理剂中定长浸泡 50min, 取出晾干, 即得到最终含血管内皮生长因子的再生丝素蛋白组织工程支架; 所述的含血管内皮生长因子的再生丝素蛋白组织工程支架的断裂伸长率为 10%。

[0048] 实施例 3

[0049] 一种含血管内皮生长因子的再生丝素蛋白组织工程支架的制备方法, 其步骤为:

[0050] (1) 以蓖麻蚕茧为原料, 经脱胶、溶解、透析、浓缩后, 制备质量百分比为 35% 的再生丝素蛋白水溶液;

[0051] 所述再生丝素蛋白水溶液的制备步骤如下: 将蓖麻蚕茧用质量百分比为 0.5% 的碳酸钠水溶液脱胶后, 溶解于摩尔浓度为 9.2mol/L 的溴化锂水溶液中, 得到再生丝素蛋白 - 溴化锂水溶液; 将此溶液离心、过滤、透析和浓缩, 得到质量百分比为 35% 的再生丝素蛋白水溶液;

[0052] (2) 以水为溶剂, 配制血管内皮生长因子和牛血清蛋白水溶液, 其中血管内皮生长因子的质量浓度为 20  $\mu$ g/ml, 牛血清蛋白的质量浓度为 0.8mg/ml;

[0053] (3) 将所述再生丝素蛋白水溶液与上述血管内皮生长因子和牛血清蛋白水溶液以 90 : 1 的体积比混合, 制备含血管内皮生长因子的再生丝素蛋白溶液;

[0054] (4) 以步骤 (3) 制备的含血管内皮生长因子的再生丝素蛋白溶液为纺丝液, 在 6 $^{\circ}$ C 下采用静电纺丝技术制备含血管内皮生长因子的再生丝素蛋白纤维毡; 所述的再生丝素蛋白纤维的直径范围为 800nm ~ 3  $\mu$ m, 所述的纤维毡的孔隙率为 72%;

[0055] (5) 以乙醇体积分数为 85% 的乙醇 - 水混合溶液作为后处理剂, 对步骤 (4) 制备的纤维毡浸入该后处理剂中拉伸 1.375 倍后, 在所述后处理剂中定长浸泡 70min, 取出晾干, 即得到最终含血管内皮生长因子的再生丝素蛋白组织工程支架; 所述的含血管内皮生长因子的再生丝素蛋白组织工程支架的断裂伸长率为 8%。

[0056] 实施例 4

[0057] 一种含血管内皮生长因子的再生丝素蛋白组织工程支架的制备方法, 其步骤为:

[0058] (1) 以蓖麻蚕茧为原料, 经脱胶、溶解、透析、浓缩后, 制备质量百分比为 37% 的再生丝素蛋白水溶液;

[0059] 所述再生丝素蛋白水溶液的制备步骤如下: 将蓖麻蚕茧用质量百分比为 0.6% 的碳酸钠水溶液脱胶后, 溶解于摩尔浓度为 9.3mol/L 的溴化锂水溶液中, 得到再生丝素蛋白 - 溴化锂水溶液; 将此溶液离心、过滤、透析和浓缩, 得到质量百分比为 37% 的再生丝素蛋白水溶液;

[0060] (2) 以水为溶剂, 配制血管内皮生长因子和牛血清蛋白水溶液, 其中血管内皮生长因子的质量浓度为 22  $\mu$ g/ml, 牛血清蛋白的质量浓度为 0.9mg/ml;

[0061] (3) 将所述再生丝素蛋白水溶液与上述血管内皮生长因子和牛血清蛋白水溶液以 110 : 1 的体积比混合, 制备含血管内皮生长因子的再生丝素蛋白溶液;

[0062] (4) 以步骤 (3) 制备的含血管内皮生长因子的再生丝素蛋白溶液为纺丝液, 在 4 $^{\circ}$ C 下采用静电纺丝技术制备含血管内皮生长因子的再生丝素蛋白纤维毡; 所述的再生丝素蛋白纤维的直径范围为 1  $\mu$ m ~ 4  $\mu$ m, 所述的纤维毡的孔隙率为 59%;

[0063] (5) 以乙醇体积分数为 90% 的乙醇 - 水混合溶液作为后处理剂, 对步骤 (4) 制备



的纤维毡浸入该后处理剂中拉伸 1.4 倍后,在所述后处理剂中定长浸泡 90min,取出晾干,即得到最终含血管内皮生长因子的再生丝素蛋白组织工程支架;所述的含血管内皮生长因子的再生丝素蛋白组织工程支架的断裂伸长率为 7%。

[0064] 实施例 5

[0065] 一种含血管内皮生长因子的再生丝素蛋白组织工程支架的制备方法,其步骤为:

[0066] (1) 以桑蚕茧为原料,经脱胶、溶解、透析、浓缩后,制备质量百分比为 40%的再生丝素蛋白水溶液;

[0067] 所述再生丝素蛋白水溶液的制备步骤如下:将桑蚕茧用质量百分比为 0.7%的碳酸钠水溶液脱胶后,溶解于摩尔浓度为 9.5mol/L 的溴化锂水溶液中,得到再生丝素蛋白-溴化锂水溶液;将此溶液离心、过滤、透析和浓缩,得到质量百分比为 40%的再生丝素蛋白水溶液;

[0068] (2) 以水为溶剂,配制血管内皮生长因子和牛血清蛋白水溶液,其中血管内皮生长因子的质量浓度为 25  $\mu$ g/ml,牛血清蛋白的质量浓度为 1.0mg/ml;

[0069] (3) 将所述再生丝素蛋白水溶液与所述血管内皮生长因子和牛血清蛋白水溶液以 60 : 1 的体积比混合,制备含血管内皮生长因子的再生丝素蛋白溶液;

[0070] (4) 以步骤 (3) 制备的含血管内皮生长因子的再生丝素蛋白溶液为纺丝液,在 6 $^{\circ}$ C 下采用静电纺丝技术制备含血管内皮生长因子的再生丝素蛋白纤维毡;所述的再生丝素蛋白纤维的直径范围为 1.5  $\mu$ m ~ 5  $\mu$ m,所述的纤维毡的孔隙率为 50%;

[0071] (5) 以乙醇体积分数为 95%的乙醇-水混合溶液作为后处理剂,对步骤 (4) 制备的纤维毡浸入该后处理剂中拉伸 1.5 倍后,在所述后处理剂中定长浸泡 120min,取出晾干,即得到最终含血管内皮生长因子的再生丝素蛋白组织工程支架;所述的含血管内皮生长因子的再生丝素蛋白组织工程支架的断裂伸长率为 5%。